Aus dem Universitäts-Röntgeninstitut Frankfurt (Main)
Direktor: Professor Dr. *Hans Holfelder*

Untersuchungen über die Wirkung von massierter und fraktionierter Röntgenbestrahlung auf die Entwicklung der Drosophilaeier

*

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
in der Gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt (Main)

vorgelegt von

Josef Schreiber
aus Frankfurt (Main)

1939
Buchdruckerei Fritz & Rappert Nachfolger, Inhaber Anton Weltz, Ochsenfurt a. M.

Referent: Professor Dr. *Hans Holfelder*

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Frankfurt

Meinen Eltern in Liebe
und Dankbarkeit zugeeignet!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547418_0100

Untersuchungen über die Wirkung von massierter und fraktionierter Röntgenbestrahlung auf die Entwicklung der Drosophilaeier.

Obwohl man sich schon seit Jahren mit der Wirkung gleicher Röntgenstrahlendosen bei verschiedener Verabreichungsart beschäftigt, ist dieses Thema immer noch aktuell. Es wechselten im Laufe der Jahre die Gesichtspunkte, die bei der Anwendung des Bestrahlungsverfahrens im Vordergrund standen, und oft lösten entgegengesetzte Standpunkte einander ab. Dieser wellenförmige Verlauf läßt sich besonders in der Bewertung des zeitlichen Rhythmus der Strahlenverabreichung verfolgen.

Kingery machte den Vorschlag, durch Nachdosierung den Zustand der Strahlenschädigung über längere Zeit konstant zu erhalten. *Regaud* zeigte 1922 zum ersten Male, daß eine Dosenverteilung unter Umständen auch eine günstigere Gesamtwirkung bedingen könne. Es ist bis jetzt noch nicht gelungen für die Aufstellung von Bestrahlungsrhythmen Gesetze von allgemeiner Gültigkeit zu finden. Als Grund für diese Tatsache könnte man die besondere Kompliziertheit der hierzu benötigten biologischen Objekte anführen. Am besten eignen sich noch zu Dosierungsversuchen Ascarideneier, Froschlaich, Drosophilaeier, Vicia faba equina. Versuche von *Schinz* und *Zuppinger, Liechti, Packard* und *Dognon* zeigen deutlich, daß verschiedene Bestranlungsrhythmen, verschiedene biologische Objekte ungleich stark beeinflussen. Ja selbst bei gleichen Medien und Strahlungsarten wurden von verschiedenen Forschern sich widersprechende Ergebnisse gefunden. Der Rhythmus der Strahlendosierung, wie es *Holfelder* nennt, ist wohl noch heute das Problem in der Strahlentherapie. Es wäre praktisch sehr wichtig, Gesetzmäßigkeiten aufzufinden, denen die Abhängigkeit der Intensität der biologischen Wirkung von der zeitlichen Verteilung der Dosen gehorcht.

Bei meinen Untersuchungen wurde ich von dem Gedanken geleitet, daß gewisse Beziehungen zwischen der Wirkung der massierten und fraktionierten Röntgenbestrahlung, zwischen dem Schädigungs- und Erholungsfaktor bestehen, die noch nicht genügend erforscht sind. Man kann sich vorstellen, daß die durch ein Röntgenstrahlenbombardement geschädigte Zelle versuchen wird durch Heranführen von „Reserven" die gesetzten Schäden auszugleichen. In diesem Augenblick setzt erneut ein Strahlenstoß ein, der die Reparationsarbeit stört. Dieser Vorgang wiederholt sich so oft, bis die Zelle nicht mehr in der Lage ist den gesetzten Schaden aus-

zugleichen und infolgedessen zugrunde geht. Es ist natürlich auch denkbar, daß durch den ersten Strahlenstoß die Zelle derart geschädigt wurde, daß sie sich nun einige Zeit in einem „Schockzustand" befindet, bevor sie mit der Aufbauarbeit beginnt. Ähnlich wie man bei der Digitalisverabreichung mit vielen kleinen Gaben in gewissen Zeitabständen eine Kumulation herbeiführen kann, so müßte es auch möglich sein durch Herausfinden des richtigen Rhythmus bei der Röntgenstrahlenverabreichung eine sich steigernde Wirkung herauszufinden. Es wäre doch sehr interessant, wenn es möglich wäre die eine oder andere Methode, die in der Therapie angewandt wird, an biologischen Objekten genauer zu erforschen.

Für meine Untersuchungen benutzte ich als Testobjekt die Entwicklung der Eier von Drosophila melanogaster Meig.

Ich will zunächst etwas genauer auf die Fliegenzucht und Versuchsanordnung eingehen, da die Autoren von anderen Arbeiten über Drosophila melanogaster nur wenig hierüber veröffentlicht haben.

Zur Drosophilazüchtung benutzte ich Flaschen von 220 ccm Inhalt, die die Form eines Erlenmeyerkölbchens hatten. In diese goß ich den Zuchtboden, den ich bei meinen ersten Versuchen nach dem Strasburgerschen Rezept anfertigte, bestehend aus:

50 g Maismehl,
4 g Agar-Agar,
48 g Rübenkraut,
340 g Wasser.

Da mir bei diesem Boden die Menge der abgelegten Eier zu gering war, probierte ich andere Zusammensetzungen aus und konnte einen Nährboden finden, bei dem die Fliegen etwa die zehnfache Eizahl ablegten. Dieser Boden wird bereitet aus:

100 g Gries
12 g Gelatine
45 g Rübenkraut
45 g Zucker
500 g Wasser

} ausreichend für 12 Gläser.

Man kocht Gries, Zucker und Rübenkraut mit 300 ccm Wasser etwa zwei Minuten lang, gibt dann die in den übrigen 200 ccm heißen Wassers gelöste Gelatine dazu und erhitzt die ganze Masse nochmals kurz, ohne es allerdings zum Kochen kommen zu lassen, da der Nährboden sich sonst nach einigen Tagen verflüssigt. Noch in heißem Zustande gießt man das Gemisch in die trockenen Zuchtflaschen bis zu einer Höhe von ½—1 cm. Ist die Masse erkaltet und dabei fest geworden, so übergießt man sie mit einer Hefelösung; ich hatte ein etwa erbsen- bis bohnengroßes Stück Weinhefe in einem Reagenzglas voll Wasser gelöst. Nach 6—12 Stunden übergießt man den Boden nochmals mit der Hefelösung. Am nächsten Tage

überzieht eine Hefeschicht den Nährboden. Sollte sich allzureichlich Flüssigkeit im Glase ansammeln, so kann man durch Einstecken von gefaltetem Filtrierpapier in den Boden diesem Übelstand abhelfen. Das Einbringen von Filtrierpapier in die Zuchtgläser ist in jedem Falle von Vorteil, da hierdurch für die Fliegen eine größere trockene Fläche geschaffen wird, auf der sie sich ansetzen können. In die auf diese Weise vorbereiteten Gläser kann man nun die Fliegen füllen. Die Flaschen werden mit einem Gazetuch verschlossen, das mit einem Gummiring umschnürt wird, um einen Luft- und Feuchtigkeitsausgleich zu gewährleisten.

Die Zucht erfolgte bei einer Temperatur von 22° bis 26° C.

Außer dem eben beschriebenen Zuchtboden benötigte ich noch einen Boden für die Versuche selbst. Will man die Eientwicklung mit der Lupe, also bei auffallendem Lichte verfolgen, so ist auch der Mais-Agar-Agar bezw. der Gries-Gelatineboden für die Versuche geeignet. Bei der von mir angewandten Methode, auf die ich noch näher eingehen werde, mußte ich einen möglichst durchsichtigen Boden herstellen. Dies ist möglich mit:

2 g Agar-Agar,
35 g Zucker,
200 g Wasser,
½ Banane.

Die 2 g Agar-Agar werden in 100 g Wasser etwa 15 Minuten gekocht, bis sich derselbe vollständig aufgelöst hat. Inzwischen erhitzt man die in feine Scheibchen geschnittene Banane mit den restlichen 100 g Wasser und den 35 g Zucker. Beides gießt man durch ein Haarsieb in ein neues Glas, bringt die Mischung zum Sieden und gießt sie dann sofort in sterile Petrischalen bis zu einer Höhe von 3—4 mm. Ist der Boden erkaltet, so wird er mit Weinhefe überimpft. Die Schwierigkeit bei der Zubereitung dieses Bodens bestand darin, die richtige Festigkeit zu finden. Ist die Masse zu weich, so sinken die Fliegeneier nach einigen Stunden in die Tiefe. Für die Fliegen selbst bedeutet der nasse Boden ein „Massengrab". Bei zu fester Konsistenz waren mitunter Fliegenstämme, die sonst gut legten, zu einer Eiablage nicht zu bewegen. Den Boden teilte ich kurz vor jedem Versuch durch Messerschnitte in kleine Quadrate ein, um die Eier nach erfolgter Ablage genau zählen zu können. Ich wählte für die Versuche 5—12 Tage alte Fliegen, die ich in leere Gläser füllte und dann über den Boden in der Petrischale stülpte. Von diesem Augenblick bis zu dem Moment des Abhebens der Gläser zählt die Legezeit, die ich immer 2½ Stunden wählte. Ist die Eiablage beendet, so wird jedes aus dem Boden gewonnene Präparat auf einen Objektträger gebracht und in eine Petrischale gelegt, die mit zwei nassen Wattebäuschen versehen ist. Die Bestrahlung erfolgte stets eine halbe Stunde nach der Legezeit. Nach erfolgter Bestrahlung und Zählung der Eier wurden die Präparate in den Petrischalen im Brutschrank bei einer Temperatur von 25° bis 26° C aufbewahrt.

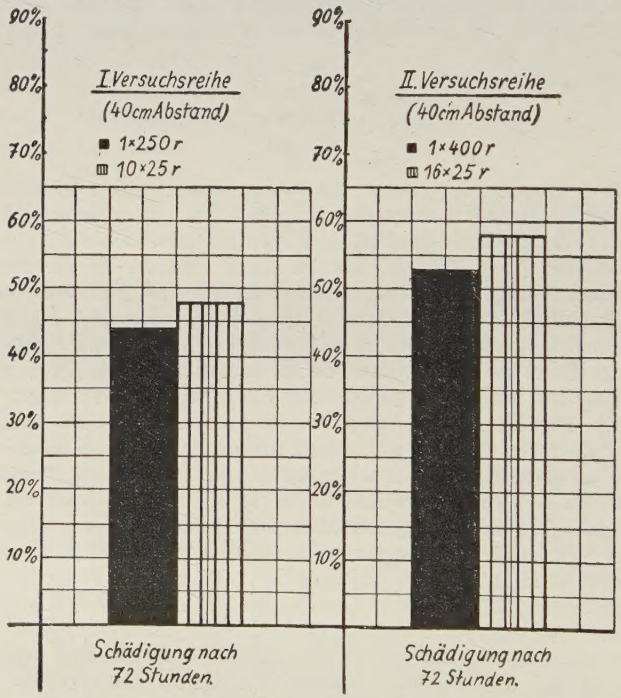
Bei meinen Untersuchungen benutzte ich eine Hochstromröhre, die

bei einem Fokus-Objekt Abstande von 40 cm 95 r/Min. frei Luft gemessen lieferte; ich bestrahlte ohne Tubus. Als Präparatunterlage diente eine Bleigummiplatte von 5 mm Dicke. Unter Zuhilfenahme einer Stoppuhr wurde der Apparat ein- und ausgeschaltet, wobei ich auf die möglichst genaue Einhaltung der Bestrahlungszeit achtete.

In der ersten Versuchsreihe bestrahlte ich bei einem Abstande von 40 cm mit 250 r kontinuierlich. Diese Dosis unterteilte ich in 10×25 r mit 9×15 Sekunden Pausen.

In der zweiten Versuchsreihe bestrahlte ich bei einem Abstande von 40 cm mit 400 r kontinuierlich und unterteilte diese Dosis in 16× 25 r mit 15 Pausen von je 15 Sekunden.

Ich verfolgte nun die Eientwicklung mit dem Mikroskop. Die Eier zählte ich sofort nach der Bestrahlung, ferner nach 24, 48 und 72 Stunden und konnte dabei folgende Schädigung feststellen:

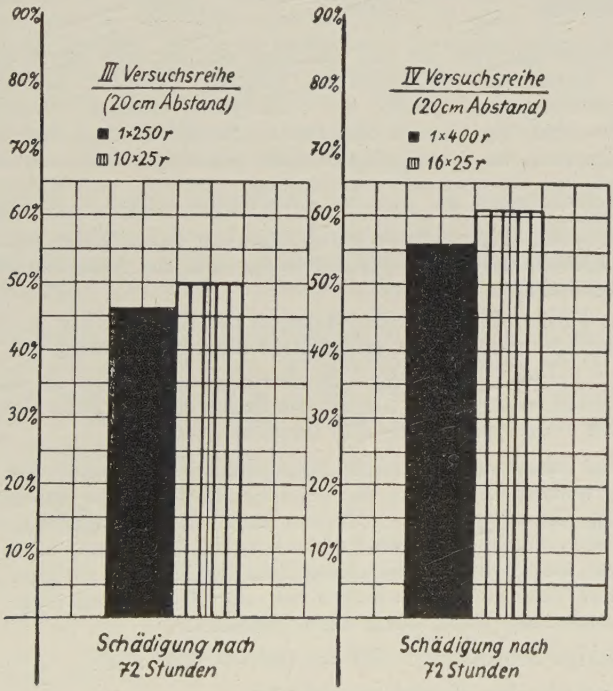


95 r/Min. *40 cm Abstand.* Bestrahlt nach 3 Stunden. (2½ Stunden Lagezeit). Bleigummiunterlage. Gesamteizahl: 17 095.

I. Versuchsreihe: 1×250 r (2 Minuten 38 Sekunden)

	24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden
Kontrolle: 1886	338 (17%)	248 (13%)	225 (12%)
Bestrahlt: 3008	1754 (58%)	1950 (53%)	1542 (51%)
Schädigung	49%	46%	44%
10×25 r (9 Pausen von je 15 Sekunden)			
Bestrahlt: 3305	1994 (60%)	1822 (55%)	1791 (54%)
Schädigung:	52%	48%	48%
II. Versuchsreihe: 1×400 r (4 Minuten 12 Sekunden)			
Bestrahlt: 4246	2748 (65%)	2561 (60%)	2505 (59%)
Schädigung:	58%	54%	53%
16×25 r (15 Pausen von je 15 Sekunden)			
Bestrahlt: 4650	3152 (68%)	2970 (64%)	2928 (63%)
Schädigung:	61%	59%	58%

Dieselben Versuche machte ich nochmals bei einem Abstande von 20 cm, wobei ich, um dieselbe Strahlenmenge zu verabreichen, nur ¼ der Bestrahlungszeit benötigte:



95 r/Min.	*20 cm Abstand.*	Bestrahlt nach 3 Stunden. ($2\frac{1}{2}$ Stunden Lagezeit). Bleigummiunterlage. Gesamteizahl: 21 780.

III. Versuchsreihe: 1×250 r (40 Sekunden)

	24 Stunden	*48 Stunden*	*72 Stunden*
Kontrolle: 2810	396 (14%)	306 (11%)	278 (10%)
Bestrahlt: 3584	2062 (57%)	1922 (54%)	1844 (51%)
Schädigung:	50%	48%	46%
10×25 r (9 Pausen von je 15 Sekunden)			
Bestrahlt: 4412	2710 (61%)	2528 (57%)	2444 (55%)
Schädigung:	55%	52%	50%

IV. Versuchsreihe: 1×400 r (1 Minute 4 Sekunden)

Bestrahlt: 5410	3602 (66%)	3364 (62%)	3256 (60%)
Schädigung:	60%	57%	56%
Bestrahlt: 5564	3974 (71%)	3676 (66%)	3597 (65%)
Schädigung:	66%	62%	61%

Als geschädigt sah ich nur die Eier an, die sich nicht zu Maden entwickelt hatten, im Gegensatz zu anderen Autoren, die auch eine Schlüpfungsverzögerung bereits als Schädigung ansahen. *Packard* z. B. verwirft die Eier, die vor 24 Stunden ausgeschlüpft sind und betrachtet die Eier, die nach 48 Stunden noch nicht geschlüpft sind, als tot.

Als Fehlerquellen bei meinem Zählresultat kämen in Frage:

1. Der Zählfehler: Durch vorsichtiges doppeltes Zählen unter dem Mikroskop mit Kreuztich ist dieser auf ein Mindestmaß zurückgeschraubt.
2. Ein Fehler, der durch die Biologie der Eier bedingt ist, wird ausgeschlossen durch das jedesmalige Kontrollpräparat.
3. Der Fehler, der gegeben ist durch den Zweifel, ob das Ei geschädigt ist oder nicht; durch die Benutzung des Mikroskops dürfte diese Fehlerquelle nicht ins Gewicht fallen.

Bei der Errechnung der Schädigungspunkte muß man die Spontanschädigung mitberücksichtigen, die bei meinen Versuchen durchschnittlich 10% betrug. Es entwickelten sich also auch ohne Bestrahlung nur 90% der Eier. Bei einem bestrahlten Präparat, bei dem sich nur 50% der Eier entwickelten, muß demnach die tatsächliche Schädigung geringer als 50% sein, da man nicht auf 100, sondern nur auf 90 beziehen darf. In unserem angenommenen Falle würde sich verhalten:

Endgültige Schädigung: $100 = (90 - 50) : 90$.

Oder durch eine Formel ausgedrückt:

$$x : 100 = (90 - 50) : 90$$
$$x = \frac{100 \cdot 40}{90} = 44{,}4\%.$$

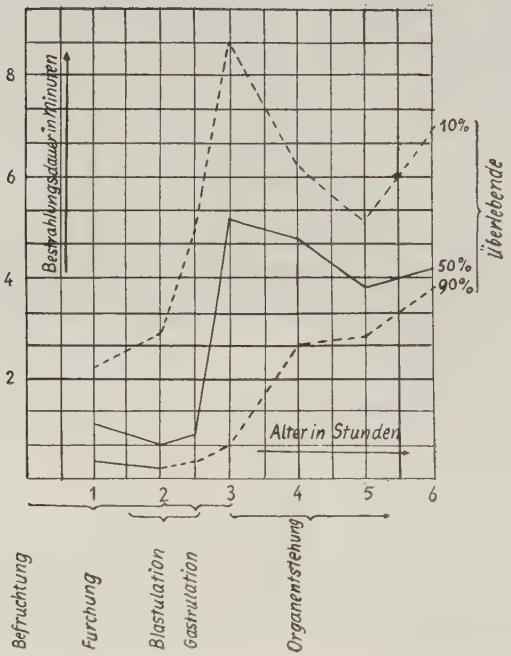
Die endgültige Schädigung würde also in diesem Falle 44,4% betragen.

Wie aus dem Vergleich von Tabelle I mit III und II mit IV hervorgeht, konnte ich einen kleinen Unterschied finden, der aber nicht ausreicht, sich für oder gegen den Einfluß des Zeitfaktors zu entscheiden, da er noch vollkommen im Bereich der biologischen Schwankung liegt. Mitunter konnte ich ohne die endgültige Ursache dafür finden zu können, beobachten, daß die Variationsbreite der Schädigung sehr groß ist. Nach den von mir gemachten Erfahrungen ist es deshalb kaum möglich, daß Drosophilaeier als Röntgendosimeter praktische Bedeutung erlangen können.

Zuweilen erzielte ich mit 250 r eine fast ebenso hohe Schädigung, wie bei anderen Versuchen mit 400 r. Wenn dies aus den Tabellen nicht zu ersehen ist, so liegt das daran, daß dieselben das Gesamtergebnis der einzelnen Versuche darstellen. Betonen muß ich aber, daß ich nicht die Absicht habe absolute Werte zu bestimmen. Es sollen lediglich Vergleichwerte aufgestellt werden. Die Schädigungsunterschiede bei den Versuchen unter sich waren fast stets im gleichen Verhältnis vorhanden.

Daß noch andere Faktoren außer der Höhe der r-Zahl eine bedeutende Rolle spielen ist natürlich. So fand *Zuppinger* bei seinen Untersuchungen an Askarideneiern, daß ein verschiedener Feuchtigkeitsgrad bei Zimmertemperatur eine Differenz bis zu 30% verursachen kann. Außerdem ist es nicht gleichgültig in welchem Zustande man das biologische Objekt vorfindet. *Glocker, Langendorf* und *Reuß* haben darauf aufmerksam gemacht, daß zwei wesentlich verschiedene Stadien zu unterscheiden sind:

1. Bestrahlungen von solcher Dauer, daß die Wachstumsgeschwindigkeit der Zelle oder des Zellkomplexes während der Bestrahlungszeit vernachlässigt werden kann. In diesem Falle ist zu erwarten, daß photochemische Gesetzmäßigkeiten für die Zeitfaktorwirkung bestimmend sind.
2. Bestrahlungen, die sich über Zeiträume hinziehen, in denen der Zustand der Zelle bezw. des Zellkomplexes merkliche Veränderungen erfährt. Hier handelt es sich offenbar um biologische Vorgänge, die bei den verschiedenen Objekten in verschiedener Weise ablaufen und die durch ein allgemeines Gesetz nicht zu beschreiben sind. Gerade bei Drosophilaeiern hat das Alter einen wesentlichen Einfluß auf die Wirksamkeit der Röntgenstrahlen. *Henshaw* untersuchte die Abhängigkeit eingehend und erhielt folgende Empfindlichkeitskurve:



Die Kurve zeigt die Bestrahlungszeiten, die nötig sind um 10%, 50% und 90% der Drosophilaeier in den verschiedenen Entwicklungsstadien abzutöten. Aus der Darstellung geht klar hervor, daß 2 Stunden alte Eier Röntgenstrahlen gegenüber am empfindlichsten sind. Nach 4 Stunden z. B. sind wesentlich höhere Dosen nötig, um dieselbe Schädigung zu setzen.

Eigene Untersuchungen konnten die starke Abhängigkeit der Wirksamkeit der Röntgenstrahlen vom Alter der Eier nur bestätigen. Es durften sich daher meine Versuche nicht über ein bestimmtes Zeitmaß hinaus hinziehen, weshalb ich auch nur Pausen von je 15 Sekunden wählte, sodaß ein Versuch nicht länger als 15 Minuten dauerte.

Wenn ich versucht habe möglichst alle äußere Faktoren, die die Röntgenstrahlenwirkung wesentlich beeinflussen könnten auszuschalten, trotzdem aber bei einzelnen Versuchen die bereits erwähnten unterschiedlichen Ergebnisse erhielt, so kann diese Tatsache nur dadurch eine Erklärung finden, daß es sich eben um biologische Objekte handelt, bei denen für die Schädigungswirkung noch eine Reihe andere Momente maßgebend ist, die noch nicht genügend erforscht sind. *Holthusen* z. B. nimmt an, daß

der Wassergehalt der Zellen und Gewebe von hauptsächlichem Einfluß ist: „Die Zunahme der Empfindlichkeit mit der Quellung der Zellkolloide, wie sie an keimenden und wieder ausgetrockneten Bohnen von Petri gefunden und bei Protozoen zuerst von Schaudinn festgestellt und später durch Zuelser und Philipp genauer untersucht wurde, ist ungefähr das einzige, was von den Faktoren bekannt ist, welche die sehr erheblichen Unterschiede in der Strahlenempfindlichkeit biologischer Objekte beherrschen".

Zur Frage des „Zeitfaktors" wäre noch zu bemerken, daß dieser auch bei nichtbiologischen Objekten eine Rolle spielt. *Rother* führte folgendes Experiment aus: Bestrahlt man eine dünne Kollodiummembran, die mit lichtempfindlicher Substanz, etwa Cyanin unter Zusatz von Thiosinamin als Katalysator beschickt ist, einmal aus einer bestimmten Entfernung und dann das gleiche Objekt aus der halben Entfernung jedesmal dieselbe Zeit lang, und sorgt man im zweiten Falle mittels eines in den Strahlengang eingeschalteten rotierenden Sektors dafür, daß nur 1/4 der Strahlung passieren kann, so ist der photochemische Effekt, nämlich die Ausbleichung, in beiden Fällen gleich, obwohl die Intensität der einfallenden Strahlen im zweiten Falle 4 mal so stark ist.

Dieses Experiment gilt nur für Cyanin, aber nicht allgemein. Es gibt eine Menge photochemischer Reaktionen, die reversibel sind und im Dunklen in der entgegengesetzten Richtung verlaufen. Als Beispiel möchte ich nur die photographische Platte anführen.

Zusammenfassend kann ich feststellen:

1. Untersuchungen über die Wirkung von massierter und fraktionierter Röntgenbestrahlung auf die Entwicklung der Drosophilaeier zeigen eine kleine Verstärkung der schädigenden Wirkung von durchschnittlich 4,5% bei Unterteilung der Dosis.
2. Durch Erhöhung des r/Min-Zuflusses bei Verkürzung des Fokus-Objektabstandes, läßt sich eine geringe Vermehrung der Schädigung feststellen.

Weitere Versuche mit anderem Rhythmus und vielleicht mit anderem Objekt müssen zeigen, ob sich in dieser Richtung keine deutlicheren Unterschiede finden lassen.

LITERATUR-ANGABE.

Dognon: Campt. rend. Soc. de biol., 1925, Bd. 92.
v. Glocker, Langendorf und *Reuß:* Strahlentherapie, 1931, Bd. 42.
Henshaw: New York.
Holthusen: Strahlentherapie, 1929, Bd. 34.
Kingery: zitiert nach Holthusen, Strahlentherapie, 1931, Bd. 41.
Liechti: Strahlentherapie, 1929, Bd. 33.
Packard: Journ. of Cancer Research, Bd. 1926, Bd. 10.
Regaud: zitiert nach Holthusen, Strahlentherapie, 1931, Bd. 41.
Rother: Strahlentherapie, 1928, Bd. 28.
Schinz und *Zuppinger:* Klin. W. 1928, Nr. 7.
Strasburger: Drosophila melanogaster Meig, 1935.
Zuppinger: Strahlentherapie, 1928, Bd. 28.

Herrn Professor Dr. Hans Holfelder danke ich bestens für die freundliche Überlassung der Arbeit.

LEBENSLAUF.

Ich bin am 28. 2. 1912 zu Frankfurt (Main) als dritter Sohn des Reichsbahnoberinspektors *Johann Schreiber* und seiner Ehefrau *Therese,* geb. Scholl, geboren. Vom 6. Lebensjahre an besuchte ich das Frankfurter „Kaiser-Friedrich-Gymnasium", um mich mit der Oberprimareife bei der Reichsbahndirektion Frankfurt (Main) für die mittlere Beamtenlaufbahn zu bewerben. Mein Gesuch fand keine Berücksichtigung. Ich bereitete mich daher an der Frankfurter „Höheren Privatschule Westend" auf das Abitur vor. Im Herbst 1932 bestand ich am „Goethe-Gymnasium" Frankfurt (Main) als Externer die Reifeprüfung. Ich begann dann mein medizinisches Studium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt (Main), wo ich auch mein Physikum und nach 11 Semestern mein medizinisches Staatsexamen im Juni 1938 ablegte.